

腎細胞癌化学療法のin vitroでの実験的研究

著者	神波 照夫
発行年	1987-06-30
URL	http://hdl.handle.net/10422/1650

氏名・(本籍)	こう なみ てる を 神 波 照 夫 (神奈川県)
学 位 の 種 類	医学博士
学 位 記 番 号	論医博第23号
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位授与年月日	昭和62年6月30日
学位論文題目	腎細胞癌化学療法 of in vitro での実験的研究 1. 細胞回転からみた各種制癌剤の併用効果について 2. 細胞回転からみたインターフェロンと制癌剤との併用効果
審 査 委 員	
主査 教授	竹 岡 成
副査 教授	友 吉 唯 夫
副査 教授	小 玉 正 智

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

腎細胞癌は、有効な制癌剤は少なく、またinterferon (以下IFNと略す) によっても期待された程の効果は得られていないため、IFNを含めた併用療法により臨床効果を高める試みがなされつつあり、その基礎的検討を要する。そこで著名はin vitroにおいて、薬剤のcell kinetics への影響を考慮した適切な併用療法についての検討をおこなった。

〔方 法〕

1. ヒト腎細胞癌由来の継代培養株NC-65に対し、同一区域内継時的写真撮影法を用い各薬剤のdose response curveを作成した。この表から得られたin vitroにおけるIC₅₀とin vivoでのLD₅₀との比から有効制癌剤の選定をおこなった。これにより有効と考えられた制癌剤について、単剤2時間接触で増殖を約30%及び50%抑制する濃度を選び、flow cytometry (以下FCMと略す)によりDNAヒストグラムの継時的変化を調べるとともに、2剤同時接触、2剤時間差接触(12時間、24時間間隔)後の増殖抑制効果を期待値及びt検定を用い比較検討した。
2. 500～4000 IU/mlの範囲で5段階の濃度で組換え型ヒト白血球インターフェロンA (γ IFN- α A)をNC-65細胞に持続接触させ、増殖抑制効果を調べるとともに、FCMにてDNAヒストグラムの継時的変化を検討した。次に、IC₅₀の濃度のvincristine(以下VCR) adriamycin (以下ADM) と、上記の濃度のIFN- α を同時あるいは時間差接触(IFN- α を24時間先行接触)させた後の細胞回転の継時的変化を調べるとともに、併用による増殖抑制効果を期待値との差及びt検定を用い比較検討した。

〔結 果〕

1. 計8種類の制癌剤のうちVCR、ADM、carboquone(以下CQ)の3剤の臨床的な有効性が示唆された。3剤とも接触後12時間でS期からG2-M期への集積を示し、24時間後には逆にG1期の相対的な増加を示し、その後、部分的に同調しつつ細胞回転は進行し、この傾向は濃度依存的であり、また、VCRに最も顕著にみられた。併用による効果をみると、ADMとCQの同時併用で比較的強い併用効果を示した。時間差接触では、CQ接触後12時間及び24時間後にVCRを接触させた群で期待値に比べ、またVCR接触後12時間でADMを接触させた群で24時間後接触及び期待値と比較し、顕著な効果が示された。

2. IFN- α はNC-65細胞に対し、感受性は低いものの、濃度依存性に増殖を抑制した。

IFN- α の高濃度領域においては、6時間から12時間にかけて軽度のG1期の増加を示し、24時間からはS期の増加が濃度依存性にみられ、36時間で最も顕著となり、72時間後でもS期の軽度増加を示した。IFN- α をVCRあるいはADMと同時に作用すると、各々の単独接触に比し12時間後にG1-S移行部の増加、その後のS期の増加が顕著となり、このような変化はIFNを先行接触させた場合に、またVCRとの併用で強くみられた。併用効果をみると、ADMとIFNの併用では同時及び時間差接触においても増殖抑制効果の増強は認めず、VCRとの併用で高濃度領域において、とくにIFN先行接触において、効果は増強された。

〔考 察〕

腎細胞癌は比較的増殖の緩徐な腫瘍とされ、schedule dependencyを考慮した併用療法は起こない難いとされてきたが、最近のFCMを用いたDNAパターンの検討では悪性度の高いaneuploid tumorが高率にあることが判明し、また本実験でも有効とされたビンカアルカロイド、ADMを中心とした併用療法に高い有効率を示すものが多い。本実験により、VCR、CQによりS期、G2-M期に高率に集積した細胞集団に対するADMの有効性、ADMとCQの同時併用による相乗効果、CQ投与後のDNA修復過程におけるVCRの有効性が示唆された。またIFN投与後の細胞回転の変化については、同調細胞を用いてのRIによる検討はこなわれてきたが、非同調細胞に対してFCMを用いた本実験においても、諸家の報告と同様、高濃度における接触後短時間でのG1-S期移行部でのブロック、その後のS期の延長がみられた。VCRやADMと併用すると移行障害部位はS期の中半に移動し、G1-S移行部の増加、その後のS期の増加が顕著となったものと推察された。またIFNによりS期~G2-M期の増加した細胞集団に対し、ADMの効果は増強されず、IFN先行投与後VCR投与により増強されたことから、IFNによるmicrotubuleへの作用がVCRによってさらに効果的に発揮されたものと推察された。

〔結 論〕

ヒト腎細胞癌由来培養細胞株NC-65に対し、VCR-ADM、CQ-VCRの時間差併用、ADM、CQの同時併用、IFN-VCRの併用の有用性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

腎細胞癌は初診時または腎摘出後に転移巣をもつものが症例の約50%を占め、このため化学療法が重要であるにもかかわらず、まだ有効な方法が確立されていない。しかし有効薬剤が皆無というのではなく、投与法の再吟味により価値ある治療体系を開発し得ることが示唆されている。本論文の著者は *in vivo* での判定の困難を克服するため、*in vitro* での薬剤の効果、とくにその併用効果について検討した。

第一にヒト腎細胞癌由来の継代培養株 NC-65 を用い、同一区域内継時的写真撮影法によりコロニー内の細胞数を数え、細胞増殖を50%抑制する薬剤量を調べ、これを IC50 とした。次にマウス LD50 と IC50 との比をもってその薬剤の有効性の規準とした。この検索により8種の薬剤のうち vincristine、adriamycin、carboquone の3種が強い増殖抑制作用を示し、有効であることが判明した。Flow cytometry を使った検索では2時間の薬剤接触後12時間でS期からG2-M期にかけて細胞が集積することが明らかになった。次に薬剤の併用効果を調べた結果、同時併用では adriamycin と carbopuone の併用に最も強い効果が見られ、時間差併用では carboquone 投与後12時間での vincristine 投与が最も有効であった。また vincristine 投与後12時間での adriamycin 投与も有効であった。

第二に著者はインターフェロンと制癌剤の併用効果について同様の方法で検索し、インターフェロンと vincristine の併用が有効であることを見出した。これはインターフェロンによるS期への細胞の集積に vincristine が有効に働くものと考えられた。

以上の成績は治療困難な腎細胞癌の化学療法について基本的な検定方法を新しく考案し、薬剤の有効投与法、併用方法について基礎的な成績を示したものであり、本論文は医学上価値あるものと認められる。